

Trübungsmessung mit phototrophen Schwefelbakterien

Prinzip

Als qualitativer Nachweis für die Bakteriendichte wird die Trübung von Partikelsuspensionen photometrisch bei 650 nm ermittelt (Optische Dichte OD₆₅₀).

Anwendungsbereich/Störungen

Nach Kämpf (1984) kann die Trübung von Suspensionskulturen phototropher Bakterien als qualitativer Wachstumsparameter verwendet werden. Van Gernerden (1968) stellte allerdings fest, dass der Schwefelgehalt einer Kultur die Trübung viel stärker beeinflusst als die Zunahme der Zellzahl. Deshalb wurden die Absorptionen schwefelfreier und schwefelhaltiger Zellen miteinander verglichen. Es besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der Zelldichte einer Bakterienkultur und ihrer Absorption bei 650 nm, sowohl bei schwefelfreien als auch bei schwefelhaltigen Zellen. Für qualitative Wachstumsexperimente ist es deshalb möglich, Absorptionen schwefelhaltiger Kulturen (y_s) in theoretische Absorptionen schwefelfreier Kulturen (y_{os}) umzurechnen. Mit der Methode kann das Wachstum von Kulturen schwefelhaltiger Bakterien durch Trübungsmessung verfolgt werden.

$$y_p = a \cdot x_p + b \cdot x_p - \frac{y_p - b}{a} \quad (1)$$

x_p = Partikelkonzentration (= schwefelhaltige Zellen(x_s) + schwefelfreie Zellen (x_{os}))

y_p = gemessene OD

y_z = theoretische OD (korrigiert auf Zellpartikel die keinen Schwefel mehr enthalten).

$$y_z = c \cdot x_p + d \text{ eingesetzt für } x_p = \frac{y_p - b}{a}$$

$$y_z = c \cdot \frac{y_p}{a} + d \quad (2)$$

Berechnungen

Für einzelne Chromatiaceen erhalten wir:

$$\textit{Chromatium minus}: y_z = 1.116 \cdot \frac{y_p - 0.0433}{1.744} + 0.0644 \quad (3)$$

$$\textit{Chromatium vinosum}: y_z = 0.9377 \cdot \frac{y_p - 0.055}{1.679} + 0.0331 \quad (4)$$

$$\textit{Amoebobacter purpureus}: y_z = 1.109 \cdot \frac{y_p - 0.0977}{1.908} + 0.0442 \quad (5)$$

Da Gleichungen (3)-(5) sehr ähnlich sind, lässt sich zur groben Abschätzung des Bakterienwachstums eine einzige Gleichung (y_{os} , 6) für alle drei Organismen erstellen (relativer Fehler 13%).

$$y_{os} = 1.054 \cdot \frac{y_p - 0.0694}{1.757} + 0.0466 \quad (6)$$

Vorgehen

- Die Absorption von Seewasserproben wird in 5 cm-Küvetten, diejenige von Bakteriensuspensionen in 1 cm-Plastikküvetten photometrisch ermittelt. Bei optischen Dichten >0.3 werden die Proben entsprechend verdünnt.
- Als *Eichstandard* dienen dicht gewachene schwefelhaltige Kulturen von *C. minus*, *C. vinosum* und *A. purpureus*. Von je einer schwefelhaltigen Stammkultur wird eine Verdünnungsreihe hergestellt und die Absorption bei 650 nm gemessen.
- Die Stammkulturen werden anschliessend zum Abbau der Schwefelreserven ins Dunkle gestellt, danach werden die Absorptionen identischer Ansätze gemessen.

Hinweis

Man geht davon aus, dass es im Dunkeln zu keiner Zunahme der Bakteriendichte kommt.

Literatur

- Kämpf C. 1984. *Untersuchungen zur Chemotrophie bei phototrophen roten Schwefelbakterien*. Dissertation, Universität Konstanz
- Van Gernerden H. 1968. On the ATP generation by *Chromatium* in darkness. *Arch. Mikrobiol.* 64:118-124
- Känel B, Mez K. 1992. *Vielfalt und Dynamik mikrobieller Stoffwechselaktivitäten in der Redoxtransitionszone des Lago di Cadagno*. Diplomarbeit Universität Zürich